

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2008年度～2010年度  
 課題番号：20791604  
 研究課題名（和文） サイトカインによる口蓋骨欠損ラットに対する骨移植後の生着効果  
 研究課題名（英文） Effect of cytokine for integration after bone graft in rat with palatal cleft  
 研究代表者  
 秦 雄一郎 (HATA YUICHIRO) 福岡歯科大学・歯学部・助教  
 研究者番号：60465747

## 研究成果の概要（和文）：

本研究では、ラット口蓋骨欠損モデルを作成し、種々のサイトカインの中でも骨成長に関与する BMP と bFGF による移植骨への生着効果を明らかにすることを目的とした。ラット口蓋骨欠損モデルの作成および移植した骨の定量的評価法の確立のため、実験動物には生後 40 日齢雄性 Wistar 系ラットをもちいた。結果として、ラット口蓋骨欠損モデルの作成は、第一臼歯部の口蓋部粘膜を剥離し、直径 1mm の半球状にラウンドバーにて口蓋骨を削除する手技を実施し確立した。骨移植方法については、ラット大腿骨からの骨採取は困難であった為、ラウンドバーで削除した骨を採取してフィブリン糊と混合し骨欠損部へ填入する方法をとることで対応できた。移植骨のサイトカインによる効果については、定性的には移植骨に加えた BMP2 と BMP7 のうち BMP2 が骨増生に良好な結果を示すと考えられた。今後の課題としては、定量化の確立と bFGF による効果の確認が必要である。

## 研究成果の概要（英文）：

The purpose of this study is to clarify the effect of BMP and bFGF on integration of bone graft. 40 days Wistar rat was used for the making the rat palatal loss model, and establishment of the quantitative evaluation method of the bone graft. As a result, the rat palatal loss model's making was established. The palatal bone was drilled by a round bar of 1mm in the diameter. For the method of bone graft, the bone deleted in a round bar was gathered, it mixed with a fibrin paste, and it transplanted to the bone loss part.

For the effect of the cytokine of the grafted bone, the results suggested that BMP2 showed an excellent result in the integration and bone growth qualitatively. It will be necessary to examine the establishment of quantification and the effect of bFGF in the future.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：矯正、小児系歯学

キーワード：BMP、骨移植、創傷治癒、口蓋裂、フィブリン糊

### 1. 研究開始当初の背景

口蓋裂患者では、学童期に歯槽骨の連続性の確立と正常な永久歯萌出の獲得のため顎裂部骨移植が行われる。しかし、骨移植後には骨吸収が生じるためより安定した骨移植が望まれている。

移植骨の生着を向上させる方法の一つとして移植骨のリモデリングを促進させる薬剤的アプローチが検討されており、サイトカインには移植骨の生着を向上させることが期待される。

骨の成長に関与するサイトカインには、骨形成タンパク質 **Bone morphogenetic protein (BMP)** や線維芽細胞成長因子 (**bFGF**) が知られている。**bFGF** は、線維芽細胞、血管内皮細胞、骨芽細胞および軟骨細胞を増殖させる作用を有することが知られており、どちらも骨移植術後の同部における骨形成過程を修飾することが期待される。

### 2. 研究の目的

口蓋裂患者では、学童期に歯槽骨の連続性の確立と正常な永久歯萌出の獲得のため顎裂部骨移植が行われる。しかし、骨移植後には骨吸収が生じるためより安定した骨移植が望まれている。近年、移植骨の生着を向上させる方法の一つとして、移植骨のリモデリングを促進させるサイトカインを応用した薬剤的アプローチが検討されている。特に骨の成長に関与するサイトカインには、骨形成タンパク質 **Bone morphogenetic protein (BMP)** や線維芽細胞成長因子 (**bFGF**) が知られている。

そこで本研究では、ラット口蓋骨欠損モデルを作成し、骨成長に関与する **BMP** と **bFGF** による移植骨への生着効果を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) ラット口蓋骨欠損モデルの作成と骨移植方法の確立

生後 40 日齢雄性 **Wistar** 系ラットの第一臼歯部の口蓋部粘膜を剥離し、直径 1mm の半球状にラウンドバーにて口蓋骨を削除してモデルを作成する。骨移植方法は、ラット大腿骨から骨採取する。

#### (2) 移植骨のサイトカインによる効果の評価法の確立

**BMP** を、コントロール群 (フィブリン糊+移植骨のみ  $5.0 \mu\text{g}$ )、2. **BMP2** 群 (コントロール+ **BMP2**  $10.0 \mu\text{g}/4.0 \mu\text{l}$  投与)、3. **BMP7** 群 (コントロール+ **BMP7**  $10.0 \mu\text{g}/4.0 \mu\text{l}$  投与)、4. **Sham** 群 (コントロール

+ **BMP** の溶媒である **HCl** を  $4.0 \mu\text{l}$  投与したもの) の 3 群に分けて行った。術後 2 週経過時に屠殺を行い、試料の病理組織学的検査は、通法に従いパラフィン包埋後 **Hematoxylin – Eosin** 染色を行い、光学顕微鏡にて観察した。

### 4. 研究成果

#### (1) ラット口蓋骨欠損モデルの作成と骨移植方法の確立

生後 40 日齢雄性 **Wistar** 系ラットの第一臼歯部の口蓋部粘膜を剥離し、直径 1mm の半球状にラウンドバーにて口蓋骨を削除する手技を実施し確立した。

骨移植方法については、ラット大腿骨からの骨採取は困難であった為、ラウンドバーで削除した骨を採取してフィブリン糊と混合し骨欠損部へ填入する方法をとることで対応できた。

#### (2) 移植骨のサイトカインによる効果の評価法の確立

術後 2 週経過後のラット口蓋部の像を示す。

コントロール群



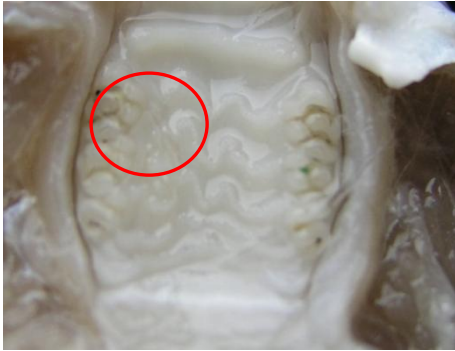
赤丸の部分の口蓋粘膜ヒダが消失し癒痕化している。一部でやや茶色の部分を認め、粘膜下に口蓋骨が透けそうな部位を認めた。

**BMP2** 群



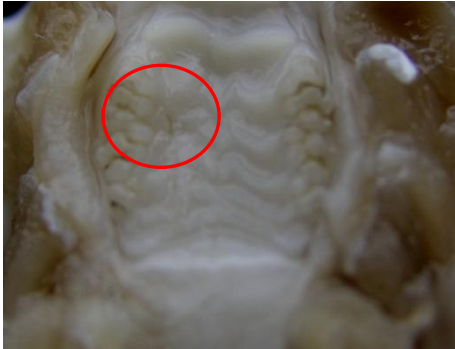
赤丸の部分の口蓋粘膜ヒダは消失して癒痕化している。しかし、コントロール群のようなやや茶色の部分は認めなかった。

### BMP7 群



他の群と同様に赤丸の部分の口蓋粘膜ヒダは消失して癒痕化している。しかし、コントロール群のようなやや茶色の部分は認めず BMP2 群と類似した像を示した。

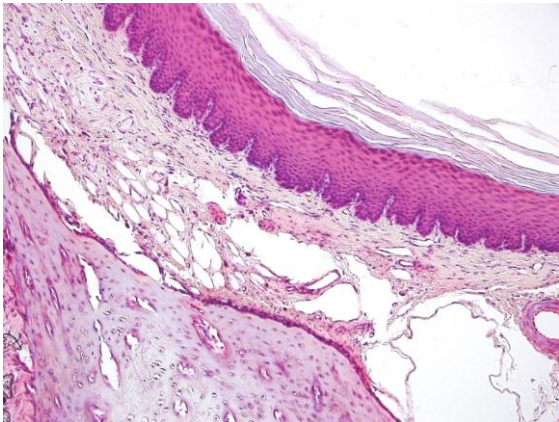
### Sham群



他の群と同様に赤丸の部分の口蓋粘膜ヒダは消失して癒痕化している。しかし、BMP2 群、BMP7 群と異なり粘膜が薄い茶色の部分が認められコントロール群と類似した像を示した。

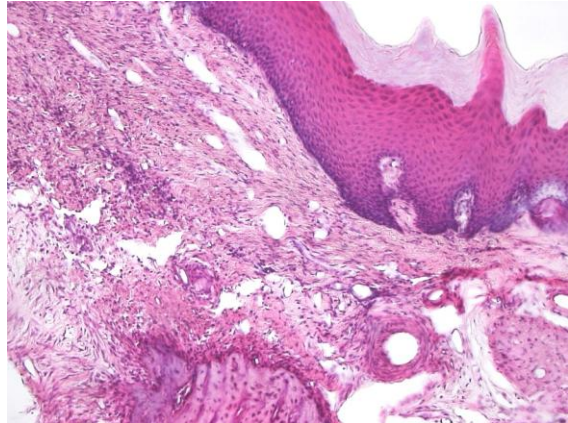
病理組織学的検索について、以下に各群の像を示す。(参考として、一切処置を行っていない無処置の像も示す。)

### 無処置群



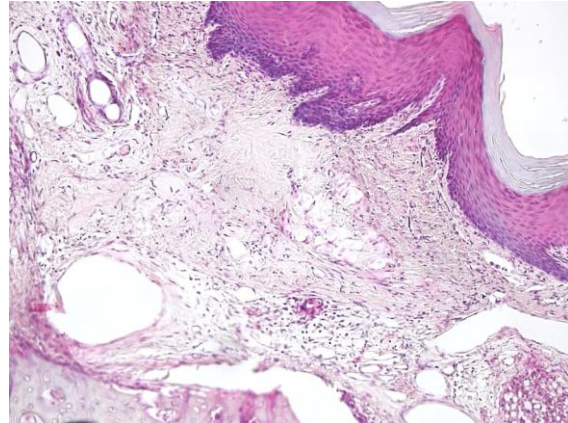
正常な上皮構造と粘膜下組織、口蓋骨が認められる。

### コントロール群



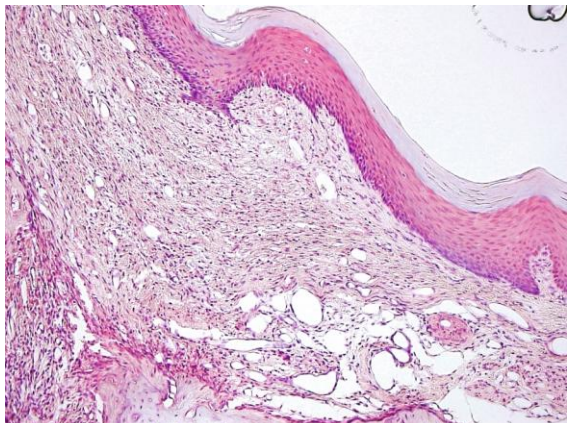
粘膜下組織に炎症像が見られ治癒過程がまだ完了していない様子が見られる。ところどころに移植骨片が残っている。

### BMP2 群



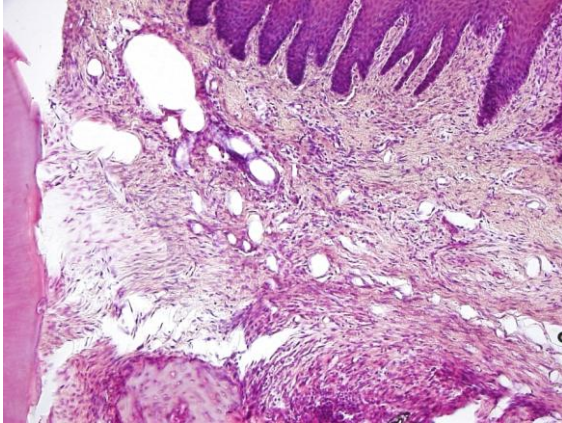
粘膜下組織に類骨様の像が見られるが周囲に炎症像はほとんど見られない。炎症反応は他の群と比較しても一番無処置のものに近く治癒過程はほぼ完了している。

### BMP7 群



粘膜下組織に類骨様の像はほとんど見られない。炎症反応は BMP2 群よりコントロール群に近似している。治癒過程はコントロール群と BMP2 群の中間の像を示している。

## S h a m群



粘膜下組織に類骨様の像はほとんど見られず、炎症反応はコントロール群に近似している。しかし口蓋骨周囲の炎症像は全ての群の中で一番強く、治癒過程は最も遅延している。

以上の結果から、**BMP2** が骨増生に良好な結果を示すと考えられた。

今後の展望として移植骨量の定量化のため電子プローブマイクロアナライザー (E P M A) をもちいて、C a , P の分布を観察し生着状態を評価する方法を検討していきたい。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

秦 雄一郎 (HATA YUICHIRO)

福岡歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：6 0 4 6 5 7 4 7